

## 细胞角蛋白18-M30/M65用于中老年脂肪肝筛查的临床价值

尹翔芳, 李振军, 施军平

### ■背景资料

血清CK18片段水平升高是非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)的独立危险因素, M30和M65具有把NASH从非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver diseases, NAFLD)中筛选出来的能力。

尹翔芳, 上海交通大学医学院苏州九龙医院检验科 江苏省苏州市 215021

李振军, 上海交通大学医学院苏州九龙医院特需医疗科 江苏省苏州市 215021

施军平, 杭州师范大学附属医院肝病科 浙江省杭州市 310015

尹翔芳, 副主任技师, 主要从事临床生物化学检验工作。

苏州市科技发展计划基金资助项目, Nos. SYSD2013059, ZXY2013003

国家高技术研究发展计划基金资助项目, No. 2011AA02A113

作者贡献分布: 此课题由李振军设计; 研究过程、论文写作由尹翔芳与李振军操作完成; 研究所用试剂由李振军提供; 数据分析由施军平完成。

通讯作者: 李振军, 主任医师, 215021, 江苏省苏州市苏州工业园区万盛街118号, 上海交通大学医学院苏州九龙医院特需医疗科, 18862232396@163.com  
电话: 0512-62629999

收稿日期: 2015-08-18  
修回日期: 2016-02-23  
接受日期: 2016-02-29  
在线出版日期: 2016-03-28

### Clinical value of serum cytokeratin 18-M30 and M65 in screening of fatty liver among middle-aged and older people

Xu-Fang Yin, Zhen-Jun Li, Jun-Ping Shi

Xu-Fang Yin, Department of Clinical Laboratory, Suzhou Kowloon Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Suzhou 215021, Jiangsu Province, China

Zhen-Jun Li, VIP & Foreign Patients Medical Center, Suzhou

Kowloon Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Suzhou 215021, Jiangsu Province, China

Jun-Ping Shi, Department of Liver Disease, the Affiliated Hospital of Hangzhou Normal University, Hangzhou 310015, Zhejiang Province, China

Supported by: Suzhou Municipal Science and Technology Development Program, Nos. SYSD2013059 and ZXY2013003; the National High Technology Research and Development Program of China, No. 2011AA02A113

Correspondence to: Zhen-Jun Li, Chief Physician, VIP & Foreign Patients Medical Center, Suzhou Kowloon Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, 118 Wanshen Street, Suzhou Industrial Park, Suzhou 215021, Jiangsu Province, China. 18862232396@163.com

Received: 2015-08-18

Revised: 2016-02-23

Accepted: 2016-02-29

Published online: 2016-03-28

### Abstract

**AIM:** To assess the clinical value of serum cytokeratin 18-M30 and M65 fragment (CK18-M30/M65) in screening fatty liver among middle-aged and older people.

**METHODS:** One hundred and thirty serum samples were collected from people aged 51-95 years who underwent a physical examination. Samples with abnormal alanine transaminase (ALT) or aspartate transaminase (AST) were excluded. Individuals were divided into healthy liver and fatty liver groups according to ultrasound results. CK18-M30 and M65 expression levels were detected using CK18-M30 and M65 quantitative detection kits.

**RESULTS:** The medians of M30 and M65 in the

### ■同行评议者

郝丽萍, 副教授, 华中科技大学同济医学院公共卫生学院营养与食品卫生学系; 迟宝荣, 教授, 吉林大学第一医院消化内科

fatty liver group were 141 U/L (80-498 U/L) and 133 U/L (0-564 U/L), respectively, which were significantly higher than those in the healthy liver group [111 U/L (27-319 U/L) and 77 U/L (0-305 U/L),  $P = 0.0027, 0.00007$ ]. When the cut-off value of M30 was set at 200 U/L, the positive rates in the fatty liver group and healthy liver group were 28.57% (16/56) and 5.41% (4/74), respectively ( $P < 0.001$ ). When 250 U/L was chosen as the cut-off of M65, the positive rates in the fatty liver group and healthy liver group were 21.43% (12/56) and 5.41% (4/74), respectively. If either M30 > 200 U/L or M65 > 250 U/L was used as a positive standard, the positive rate in the fatty group was 46.43% (26/56), but only 10.81% (8/74) in the healthy group.

**CONCLUSION:** Serum CK18-M30 and M65 might be helpful in screening fatty liver in middle-aged and older populations.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Fatty liver; Screening; Cytokeratin 18-M30; Cytokeratin 18-M65

Yin XF, Li ZJ, Shi JP. Clinical value of serum cytokeratin 18-M30 and M65 in screening of fatty liver among middle-aged and older people. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(9): 1444-1448 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1444.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i9.1444>

## 摘要

**目的:** 探讨血清细胞角蛋白18(cytokeratin 18, CK18)-M30和M65片段(CK18-M30/M65)水平用于筛查脂肪肝的临床价值。

**方法:** 选取中老年健康体检者血清样本130例, 剔除谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)或谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)超标样本, 根据肝区B超结果分成“健康肝”和“脂肪肝”两组, 用M30和M65定量检测试剂盒检测, 比较两组M30和M65的表达水平。

**结果:** 脂肪肝组CK18-M30和M65的中位数分别为141 U/L(80-498 U/L)和133 U/L(0-564 U/L), 健康肝组CK18-M30和M65的中位数分别为111 U/L(27-319 U/L)和77 U/L(0-305 U/L), 两组之间 $F$ 检验的 $P$ 值分别为0.0027和0.00007, 差异非常显著。当CK18-M30以200 U/L作为cut-off值时, 脂肪

肝组CK18-M30的阳性率为28.57%(16/56), 健康肝组的阳性率为5.41%(4/74), 两组间差异有统计学意义( $P < 0.001$ ); 当CK18-M65以250 U/L作为cut-off值时, 脂肪肝组的阳性率为21.43%(12/56), 健康肝组的阳性率为5.41%(4/74); CK18-M30和M65联合时, 脂肪肝组的阳性率为46.43%(26/56), 健康肝组的阳性率为10.81%(8/74)。

**结论:** 血清CK18-M30和M65水平可能是中老年健康体检脂肪肝的有效筛查指标。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 脂肪肝; 筛查; 细胞角蛋白18-M30; 细胞角蛋白18-M65

**核心提示:** B超不能区分脂肪性肝炎和单纯性脂肪肝, 在现有的脂肪性肝炎相关性指标中, 细胞角蛋白18(cytokeratin 18, CK18)片段M30和M65是比肝酶更有效的指标。特别是两者联合使用比谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、C反应蛋白等炎症指标灵敏度和特异性更高。

尹棚芳, 李振军, 施军平. 细胞角蛋白18-M30/M65用于中老年脂肪肝筛查的临床价值. *世界华人消化杂志* 2016; 24(9): 1444-1448 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1444.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i9.1444>

## 0 引言

脂肪性肝病已取代乙型肝炎成为我国第一大肝脏疾病, 健康体检时肝区B超是发现“脂肪肝”的主要手段。B超下的“脂肪肝”包括单纯性脂肪肝和脂肪性肝炎, 前者是肝病, 后者是亚健康状态, B超不能区分脂肪性肝炎和单纯性脂肪肝<sup>[1]</sup>。在现有的脂肪性肝炎相关性指标中, 细胞角蛋白18(cytokeratin 18, CK18)片段M30和M65是比肝酶更有效的指标<sup>[2-5]</sup>。CK18是肝细胞的主要骨架蛋白, 当被蛋白酶在特定位点剪切, 暴露出特异的Asp396新抗原表位, 含有该表位的CK18片段被称为M30片段, 他是肝细胞凋亡标志物。而M65是肝细胞坏死时释放的完整CK18蛋白和含或不新表位的蛋白片段, 被称为肝细胞死亡(包括凋亡和坏死)标志物<sup>[6]</sup>。动物研究<sup>[6]</sup>证明, 非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)、丙型肝炎、肝细胞癌早期、各种病因肝纤维化时, 肝

## ■ 相关报道

Feldstein等在一项CK18-M30诊断NASH价值的多中心验证性研究中, 证明M65和M30可作为预测NASH的独立危险因素, 诊断NASH的AUC达到0.83。Wieckowska等发现NASH患者血清CK18水平明显高于单纯性脂肪肝者和肝活检正常者, 诊断NASH的AUC约为0.93。

同行评价

本文拟研究血清细胞角蛋白18-M30和M65片段(CK18-M30/M65)水平用于筛查脂肪性肝炎的临床价值, 选题较好。

表 1 各组样本信息及各指标数据比较 (mean ± SD)

项目	脂肪肝(n = 56)	正常肝(n = 74)	P值	参考值
性别(男)	48.21%(27/56)	60.81%(45/74)	—	—
年龄(岁)	70.54 ± 9.22	67.84 ± 8.50	0.16990	—
ALT(U/L)	20.14 ± 10.49	16.92 ± 6.67	0.00210	0.0–55.0
AST(U/L)	24.46 ± 6.89	24.97 ± 5.16	0.08560	5.0–40.0
CHOL(mmol/L)	4.45 ± 0.81	4.63 ± 0.65	0.09990	2.3–5.7
TG(mmol/L)	1.18 ± 0.27	1.06 ± 0.36	0.07330	0.5–1.7
HDL(mmol/L)	1.31 ± 0.27	1.49 ± 0.24	0.22120	0.8–1.8
CRP(mg/dL)	5.42 ± 4.20	4.31 ± 2.64	0.00210	0.0–5.0
WBC(10 <sup>9</sup> /L)	6.20 ± 1.75	5.97 ± 1.63	0.30820	4.0–10.0
M30(U/L)	159.12 ± 82.16	129.51 ± 49.70	0.00270	20.0–200.0
M65(U/L)	146.88 ± 147.19	94.31 ± 81.11	0.00007	30.0–250.0

ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; WBC: 白细胞计数; CRP: C反应蛋白; TG: 甘油三酯; CHOL: 胆固醇。

细胞主要以凋亡为主, 此时不伴有或仅少量细胞内容物释放, 肝组织无明显炎症, 谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)或谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)正常或轻度升高<sup>[7]</sup>。本研究用B超确定脂肪肝的健康体检标本, 评价了ALT和AST正常值时, M30和M65用于筛查脂肪肝的应用价值。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2015-04/2015-06苏州九龙医院健康体检样本, 剔除腹泻、肺炎、糖尿病及肝肾功能异常者, 年龄51-95岁, 男女比例约1:1.2。CK18-M30检测试剂盒和CK18-M65检测试剂盒为苏州和锐医药科技有限公司生产的CFDA注册产品, 配套酶标仪为iMARK(美国BioRAD)。血清ALT、AST、甘油三酯(triacylglycerol, TG)、C反应蛋白(C reactive protein, CRP)、胆固醇(cholesterol, CHOL)等生化指标由德赛诊断系统(上海)有限公司提供, 配套检测仪器为美国雅培C8000型全自动生化分析仪。

1.2 方法 根据肝区B超结果, 分为“健康肝”组和“脂肪肝”组。肝酶等生化指标及血常规数值为体检时新鲜样本检测结果。CK18-M30和M65为-80℃保存2 mo内, 检测时试剂及样本在室温放置30 min后, 按试剂盒说明书进行检测, M30和M65的cut-off值按试剂厂家建议的数值, 分别为200 U/L和250 U/L。

统计学处理 受试者工作特征(receiver

operating characteristic, ROC)曲线及曲线下面积(area under ROC curves, AUC)用SPSS软件计算。各组数值进行双样本方差检验,  $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 入组样本的健康体检信息及各指标数据 根据B超结果, 分为“健康肝”组和“脂肪肝”组, 比较了两组间在年龄、性别、白细胞计数(white blood cell, WBC)、ALT、AST、CRP、TG、CHOL等方面的差异以及两组血清M30和M65的表达水平, 用统计软件计算两组间P值。两组间具有显著差异的指标包括ALT、CRP、M30和M65( $P = 0.0021$ 、 $0.0021$ 、 $0.0027$ 、 $0.00007$ )(表1)。

2.2 M30、M65、ALT和CRP的ROC曲线分析 用SPSS软件计算表1所列生化及CK18数据, 其中M30、M65、ALT、CRP和TG的AUC>0.5(图1), 分别为0.625、0.657、0.583、0.586和0.601, 其他指标的AUC均在0.5以下, 提示不具有诊断价值。TG虽然AUC面积>0.5, 参考值为1.7 mmol/L时的特异性约90%, 但灵敏度仅3.6%, 在本研究中诊断价值较小。ALT厂家提供的参考值为55 U/L, 但由于入组的时候已经剔除了ALT数值55 U/L及以上样本, 本研究选ALT特异性接近90%时的最大灵敏度为参考值(约为28 U/L)。

2.3 M30、M65、CRP和ALT阳性率的比较 M30和M65的参考值分别为200 U/L和250 U/L

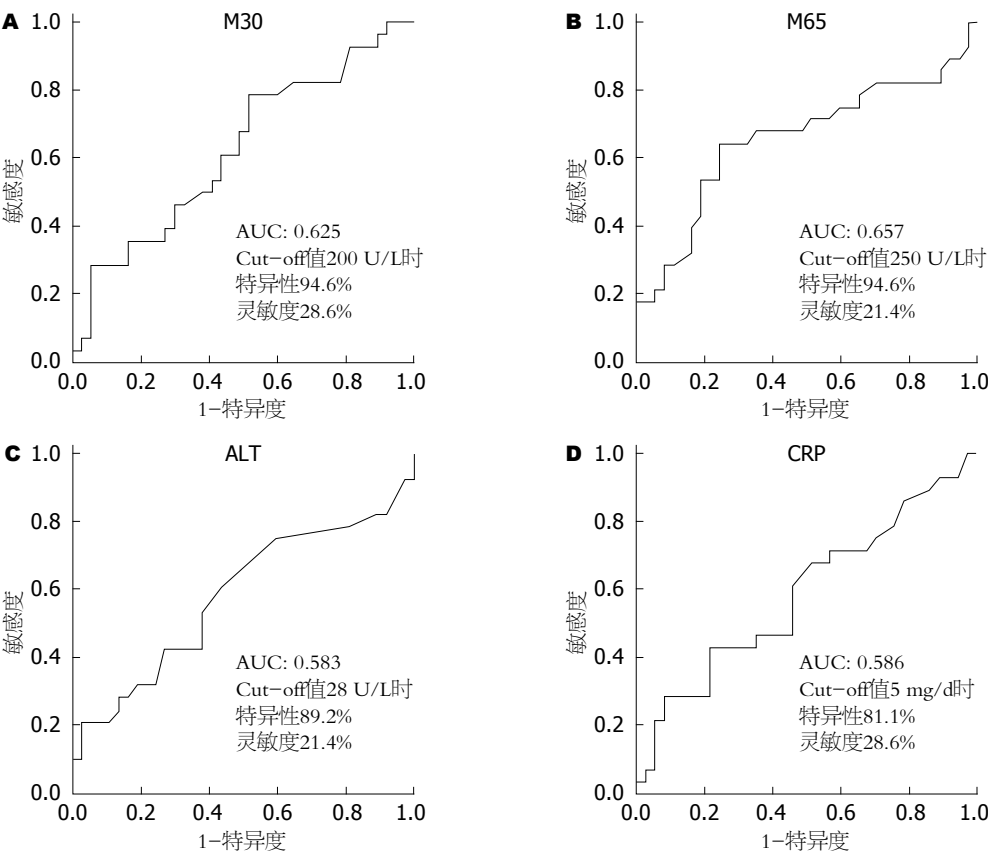


图 1 ROC曲线分析. A: CK18-M30; B: CK18-M65; C: ALT; D: CRP. ALT: 谷丙转氨酶; CRP: C反应蛋白; ROC: 受试者工作特征.

表 2 比较脂肪肝组和健康肝组M30、M65、CRP及ALT的阳性率 (%)			
项目	cut-off值	脂肪肝( <i>n</i> = 56)	正常肝( <i>n</i> = 74)
ALT(U/L)	28	21.43(12/56)	10.81(8/74)
CRP(mg/dL)	5	28.57(16/56)	22.97(17/74)
CK18-M30(U/L)	200	28.57(16/56)	5.41(4/74)
M65(U/L)	250	21.43(12/56)	5.41(4/74)
M30或M65任一阳性		46.43(26/56)	10.81(8/74)

ALT: 谷丙转氨酶; CRP: C反应蛋白.

时, 健康肝组的阳性率均为5.41%(4/74), 而脂肪肝组的阳性率分别为28.57%(16/56)和21.43%(12/56), CRP在脂肪肝组的阳性率虽然也达到28.57%, 但健康肝组的阳性率也很高, 两组间差别不显著(表2). 另外, M30和M65仅在较高数值时可能同时阳性, 多数情况下不同时阳性, 在脂肪肝组M30和M65仅有一例同时阳性, 当M30和M65任一超过参考值设为阳性时, 脂肪肝组的阳性率高达46.43%(26/56), 高于ALT的阳性率21.43%. 上述结果提示, M30和M65联合检测是中老年人健康体检时筛查脂肪

肝的有效手段.

### 3 讨论

B超诊断为“脂肪肝”时, 提示肝区有脂肪堆积, 但肝炎的金标准是病理诊断. 鉴于病理样本来源困难, 本研究根据B超结果简单分组, 在入组时, 排除了转氨酶超标, 酗酒、乙型肝炎和丙型肝炎等肝病史, 以最大的可能性使入组的样本接近非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver diseases, NAFLD). 据最新统计, NAFLD在中国不同地区进行的社区人群研究



中, NAFLD患病率分别为: 北京31.29%, 上海30.0%, 广东36.49%, 中国香港27.33%, 已经取代乙型肝炎成为第一大肝病<sup>[8]</sup>. 严格意义上来说, NAFLD不完全是肝病, 他包括单纯性脂肪肝和NASH, 而单纯性脂肪肝是一种亚健康状态, NASH才是肝病, 是健康体检的重要目标之一. 作为肝病, NASH有潜在发展为肝纤维化的风险<sup>[9]</sup>并且更是代谢紊乱的一个表现, 不光与心血管和脑血管意外有关<sup>[10,11]</sup>, 而且越来越多的研究<sup>[12,13]</sup>认为NASH是原发性肝癌的独立危险因素, 因此, 把NASH从“脂肪肝”中挑选出来, 并进行早期干预, 对降低我国肝病死亡率意义重大.

越来越多的研究<sup>[2-4]</sup>认为, 血清CK18片段水平升高是NASH的独立危险因素, M30和M65具有把NASH从NAFLD中筛选出来的能力. Feldstein等<sup>[2]</sup>在一项CK18-M30诊断NASH价值的多中心验证性研究中, 证明M65和M30可作为预测NASH的独立危险因素, 诊断NASH的AUC达到0.83. Wieckowska等<sup>[3]</sup>发现NASH患者血清CK18水平明显高于单纯性脂肪肝者和肝活检正常者, 诊断NASH的AUC约为0.93. 类似的结果来自对201名儿童的研究<sup>[4]</sup>, 并发现血清CK18-M30水平与NASH的发病率显著相关, 血清CK-18每升高10 U/L, 则发生NASH的可能性增加约70%. 我国学者研究了汉族和维吾尔族NASH与CK18片段的相关性, 同样支持CK18-M30和M65在健康人、单纯性脂肪肝和NASH患者血清中的水平依次升高<sup>[14-17]</sup>, 提示CK18片段可用于NASH的筛查.

本研究在前期研究的基础上, 创新性阐述了M30和M65在肝酶正常人群筛查脂肪性肝病的应用价值, 特别是两者联合使用比ALT、CRP等炎症指标灵敏度和特异性更高.

#### 4 参考文献

- 1 裴强, 王晓素, 王宪波. 非酒精性脂肪性肝炎发病机制的研究进展. 临床肝胆病杂志 2008; 24: 304-306
- 2 Feldstein AE, Wieckowska A, Lopez AR, Liu YC, Zein NN, McCullough AJ. Cytokeratin-18 fragment levels as noninvasive biomarkers for nonalcoholic steatohepatitis: a multicenter validation study. *Hepatology* 2009; 50: 1072-1078 [PMID: 19585618 DOI: 10.1002/hep.23050]
- 3 Wieckowska A, Zein NN, Yerian LM, Lopez AR, McCullough AJ, Feldstein AE. In vivo assessment of liver cell apoptosis as a novel biomarker of disease severity in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2006; 44: 27-33 [PMID: 16799979 DOI: 10.1002/hep.21223]
- 4 Feldstein AE, Alkhouiri N, De Vito R, Alisi A, Lopez R, Nobili V. Serum cytokeratin-18 fragment levels are useful biomarkers for nonalcoholic steatohepatitis in children. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 1526-1531 [PMID: 23752877 DOI: 10.1038/ajg.2013.168]
- 5 Aida Y, Abe H, Tomita Y, Nagano T, Seki N, Sugita T, Itagaki M, Ishiguro H, Sutoh S, Aizawa Y. Serum cytokeratin 18 fragment level as a noninvasive biomarker for non-alcoholic fatty liver disease. *Int J Clin Exp Med* 2014; 7: 4191-4198 [PMID: 25550930]
- 6 Luedde T, Kaplowitz N, Schwabe RF. Cell death and cell death responses in liver disease: mechanisms and clinical relevance. *Gastroenterology* 2014; 147: 765-783.e4 [PMID: 25046161 DOI: 10.1053/j.gastro.2014.07.018]
- 7 Bantel H, Lügering A, Heidemann J, Volkmann X, Poremba C, Strassburg CP, Manns MP, Schulze-Osthoff K. Detection of apoptotic caspase activation in sera from patients with chronic HCV infection is associated with fibrotic liver injury. *Hepatology* 2004; 40: 1078-1087 [PMID: 15486927 DOI: 10.1002/hep.20411]
- 8 张薇, 魏来. 亚洲非酒精性脂肪性肝病的流行情况. 中华肝脏病杂志 2013; 21: 801-804
- 9 董育玮, 陆伦根. 非酒精性脂肪性肝病肝纤维化诊治研究进展. 临床内科杂志 2015; 32: 306-309
- 10 中华医学会内分泌分会肝病与代谢学组(筹). 中华医学会内分泌分会非酒精性脂肪性肝病与相关代谢紊乱诊疗共识. 中华内分泌代谢杂志 2010; 26: 531-533
- 11 他汀类药物安全性评价工作组. 他汀类药物安全性评价专家共识. 中华心血管病杂志 2014; 42: 890-894
- 12 刘笑雷, 杨志英. 非酒精性脂肪性肝病与原发性肝癌关系的研究进展. 癌症进展 2014; 12: 59-63
- 13 田景绘, 唐艳霞. 非酒精性脂肪性肝病与原发性肝癌相关性探讨. 中国临床新医学 2013; 6: 771-776
- 14 董方元, 张帆, 保志军. CK18诊断非酒精性脂肪性肝病的价值. 肝脏 2014; 19: 700-702
- 15 蔡雯, 宋江美, 米合日古丽·热西提, 王利芳, 郭子双, 李格, 丁燕, 姚华. 血清CK18-M65、M30与非酒精性脂肪性肝病的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21: 2378-2384
- 16 钱建成, 陆璐, 娄国强, 荀运浩, 施军平. 血清细胞角蛋白18诊断非酒精性脂肪性肝病的价值探讨. 实用肝脏病杂志 2012; 15: 291-294
- 17 沈雪, 李良平. 细胞角蛋白18和Fas在非酒精性脂肪性肝病中的表达及临床意义. 中华消化杂志 2015; 35: 99-103

编辑: 于明茜 电编: 都珍珍





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**  
8226 Regency Drive, Pleasanton,  
CA 94588, USA  
Fax: +1-925-223-8242  
Telephone: +1-925-223-8243  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

